

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Vivian Milotić**

**Utjecaj tireotropnih hormona na koštani  
metabolizam**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2014.**

**Ovaj diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za mineralizirana tkiva pod vodstvom prof. dr. sc. Lovorke Grgurević i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.**

## **POPIS KORIŠTENIH KRATICA**

TSH- tireotropin

ATP- adenzin trifosfat

TPTx- tireoparatireodektomija

tBV- trabekularni koštani volumen

TRH- tireoliberin

FSH- folikulostimulirajući hormon

LH- luteinizirajući hormon

hCG- humani korionski gonadotropin

T3- trijodtironin

T4- tiroksin

TSH-R- TSH receptor

Tg- tireoglobulin

PTH- parathormon

VDR- receptor za vitamin D

BMD- koštana mineralna gustoća

RANKL- engl. receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand

OPG- osteoprotegrin

RANK- engl. receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B

TNF- engl. tumor necrosis factor

DXA- dvoenergetska apsorpciometrija x- zraka

TR- tireoidni receptor

M-CSF- faktor stimulacije kolonije makrofaga

## SADRŽAJ

1. Sažetak.....	4
2. Summary .....	5
3. Hormoni štitnjače i TSH.....	6
3.1. Fiziologija hormona štitnjače.....	6
3.2. Regulatorna os hipotalamus-hipofiza-štitnjača.....	8
3.3. Tireotropin (TSH).....	9
4. Koštani metabolizam i principi koštane pregradnje.....	9
5. Hormoni štitnjače i kost.....	12
5.1. Tireotoksikoza.....	12
5.2. Subklinički hipertiroidizam.....	13
5.3. Supresivna terapija tiroksinom.....	14
5.4. Molekularni mehanizam.....	14
6. TSH i koštani metabolizam.....	15
7. Zaključci.....	18
8. Zahvale.....	19
9. Popis literature.....	20
10. Životopis.....	26

## 1. Sažetak

Utjecaj hormona štitnjače, kao i njihov mehanizam djelovanja predmet su istraživanja više od jednog stoljeća i još uvijek nisu do kraja razjašnjeni. Kliničke studije uzročno su povezale hipertireoidizam i povećanu učestalost fraktura, čak i nakon uspostave eutiroidnog statusa. Subklinički hipertireoidizam također utječe na koštanu gustoću, ali su podaci oko povećane incidencije prijeloma kontradiktorni. U skladu s navedenim, u pacijenata s hipotireozom primjećuje se povećana ili normalna koštana gustoća.

U pacijenata s niskom razinom tireotropina (TSH) uočen je snižen koštani volumen, dok pacijenti s TSH u granicama normale imaju koštani volumen jednak zdravim eutireotičnim osobama i posljedično nepromijenjen rizik koštanih prijeloma. Otkrićem receptora za TSH na kosti otvoreno je pitanje njegovih direktnih učinaka na koštani metabolizam bez posredovanja hormona štitnjače.

Antiresorptivni i anabolički potencijal TSH pokazan je u starih ovarijektomiranih štakora, štakora s uklonjenom štitnom i doštitnim žlijezdama te u miša s homozigotnim nul alelom za TSH receptor. Pretklinički nalazi potvrđeni su u kliničkim studijama. Pacijenti stariji od 65 godina, s niskom razinom TSH u serumu imaju veći rizik za frakturu kralješka i kuka.

Značaj učinka TSH na koštani metabolizam danas je jasan, dok je mehanizam njegova djelovanja samo djelomično objašnjen. Zaključno, koncentracija TSH trebala bi biti rutinski određena u pacijenata s povećanim rizikom za osteoporozu i poremećenim tiroidnim statusom.

Ključne riječi: koštani metabolizam, hipertireoidizam, tireotropin

## 2. Summary

The mechanisms of action as well as the clinical effects of thyroid hormones on bone has been of interest for more than a century, and are still not fully elucidated. Hyperthyroidism is associated with an increased life-time risk for fractures, even after achieving euthyroid status. Subclinical hyperthyroidism may also affect bone mineral density, while possible increase of fracture rate is not unanimously established. On contrary, hypothyroid patients tend to exhibit higher or normal bone density.

It was found that only patients with suppressed thyroid-stimulating hormone (TSH) had decreased bone volume, whereas patients with a TSH level in the normal range seem to have similar bone volume as euthyroid humans and accordingly decreased fracture rate. The presence of active TSH receptor in bone raised the possibility of its direct stimulation of bone formation without interplay with thyroid hormones.

TSH exerts both antiresorptive and anabolic effects on bone remodeling in aged ovariectomized rats, TSH receptor null mice and rats with removed thyroid and parathyroid glands. Moreover, patients older than 65, who had a low serum TSH level, were at increased risk for vertebral and hip fractures.

Collectively, importance of TSH in bone homeostasis is nowadays clear. Nevertheless, mechanism of TSH actions on bone is still partially unclear. TSH status should be examined in all patients with increased risk of osteoporosis accompanied with impaired thyroid status.

Key words: bone metabolism, hyperthyroidism, thyroid stimulating hormone

### 3. Hormoni štitnjače i TSH

#### 3.1. Fiziologija hormona štitnjače

Tetrajodtironin (tiroksin, T<sub>4</sub>) i trijodtironin (T<sub>3</sub>) su hormoni štitne žlijezde koji se izlučuju nakon stimulacije s tireotropinom (TSH) iz hipofize. T<sub>4</sub> i T<sub>3</sub> su derivati aminokiseline tirozina (amini) koje luče folikularne stanice štitne žlijezde. Svoj učinak ostvaruju interakcijom s nuklearnim receptorima (Williams textbook of Endocrinology 12th edition Schlomo Melmed et al. 2011), gdje potiču transkripciju velikoga broja gena. Posljedično se u gotovo svim stanicama tijela sintetizira veliki broj enzima, te građevnih i prijenosnih bjelančevina. Konačni učinak tih promjena je povećanje funkcionalne aktivnosti u cijelome tijelu.

Od ukupne količine metabolički aktivnih hormona štitne žlijezde 93% čini tiroksin, a 7% trijodtironin. Na periferiji se glavina tiroksina izlučenog iz štitne žlijezde pretvara u trijodtironin, pa su funkcionalno važna oba hormona. Funkcija tih dvaju hormona kvalitativno je jednaka, no razlikuje se brzinom i intenzitetom djelovanja. Djelovanje trijodtironina četiri je puta jače od djelovanja tiroksina, ali je u njegova koncentracija u krvi značajno manja i zadržava se mnogo kraće od tiroksina.

Prvi korak u sintezi hormona štitne žlijezde predstavlja prijenos jodida iz krvi u žljezdane stanice. Unos joda u štitnjaču energetski je ovisan proces koji se odvija protiv koncentracijskog gradijenta zahvaljujući aktivnom transportu jodida putem transportera (ATP-ovisan Na/I kotransporter ili simporter) na bazolateralnoj membrani folikularne stanice štitnjače. Sadržaj joda u normalnoj štitnjači je 20-50 puta viši nego u krvi. Nekoliko čimbenika utječe na brzinu hvatanja jodida u štitnoj žlijezdi od kojih je najvažniji koncentracija TSH. Stimulacija štitnjače TSH-om povećava unos joda i transport koloida u stanicu, sekreciju T<sub>3</sub> i T<sub>4</sub>, dok naprotiv hipofizektomija znatno smanjuje aktivnost jodidne crpke u stanicama štitnjače. Dnevna potreba je 70-100 µg joda. Unutarstanični se jod brzo oksidira uz pomoć

enzima peroksidaze, kako bi se dalje mogao izravno vezati na tirozilske ostatke molekule tireoglobulina (TG).

Tireoglobulin je veliki glikoprotein (660 kDa) koji stvaraju endoplazmatska mrežica i Golgijev aparat u stanicama štitne žlijezde. Svaka molekula tireoglobulina sadrži oko 70 molekula aminokiseline tirozina, koje su glavni supstrati za udruživanje s jodom u stvaranju hormona štitnjače. Proces vezanja oksidiranog joda s molekulom tireoglobulina naziva se organifikacija tireoglobulina. Taj se proces zbiva odmah po otpuštanju tireoglobulina iz Golgijeva aparata, a jodirane molekule TG-a se skladište u koloidnom prostoru. Ti procesi zahtijevaju nazočnost joda, peroksidaze i TG te odgovarajuću građu i funkciju stanice. Peroksidaza također regulira vezanje joda na tirozilske ostatke te spajanje jodtirozina. Kad je sustav peroksidaze zakočen, ili postoji nasljedni nedostatak tog sustava u stanicama, obustavlja se stvaranje hormona štitnjače. Jod se veže za otprilike šestinu tirozinskih aminokiselina unutar tireoglobulinske molekule. Tirozin se najprije jodira u monojodtirozin, a zatim u dijodtirozin. Tiroksin je glavni hormonski produkt reakcije udruživanja dva dijodtirozina. Ako se jedna molekula monojodtirozina udruži s jednom molekulom dijodtirozina, nastaje trijodtironin, oblik hormona koji čini 1/15 ukupne količine konačnih hormona. Nakon završetka sinteze hormona unutar štitnjače, svaka molekula tireoglobulina sadrži i do 30 molekula tiroksina i nekoliko molekula trijodtironina. U tom se obliku hormoni štitne žlijezde pohranjuju u folikulima u količinama koje su dostatne za opskrbu tijela hormonima dva do tri mjeseca. To je i razlog što se fiziološki učinci manjka hormona štitne žlijezde očituju tek mjesecima poslije prestanka njihove sinteze. Sekrecija hormona štitnjače počinje pinocitozom TG-a i koloida. Pojava unutarstaničnih kapljica koje sadrže TG najraniji je učinak stimulacije TSH-a. U koloid se pružaju izdanci nalik pseudopodija koji prihvaćaju tireoglobulin i pinocitozom ga uvlače u stanicu gdje se spaja s lizosomima u fagolizosom. Proteaze oslobađaju T3 i T4 od tireoglobulina i difundiraju kroz bazolateralnu membranu u krv. Također se oslobađaju i monojodtirozin i dijodtirozin od kojih



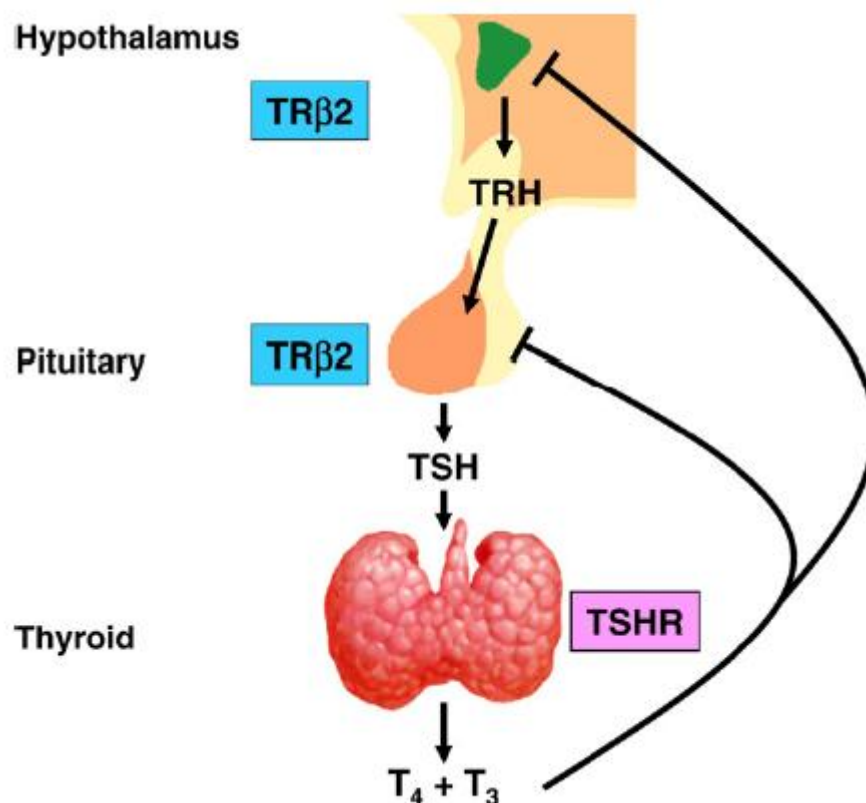
se oslobađa jod enzimom dejodaza i ponovno upotrebljava za novi proces organifikacije tireoglobulina. Hormoni štitnjače cirkuliraju vezani na transportne proteine. Najvažniji je TBG na koji je vezano 80% T4 i 40% T3, dok ostali proteini (TBPA i albumin) vežu manju količinu hormona. Zbog velikog afiniteta tih proteina za hormone štitnjače oni se vrlo sporo otpuštaju u stanice. Vrijeme poluživota TBG u plazmi jest pet dana. (Williams textbook of endocrinology 12th edition Schlomo Melmed et al. 2011). Polovica se ukupne količine tiroksina u krvi otpusti u tkivne stanice svakih šest dana, a polovica trijodtironina, zbog manjeg afiniteta za bjelančevine, otpusti se u stanice u jednome danu. Zbog plazmatskog i staničnog vezanja za proteine ti hormoni imaju veliko vrijeme latencije i produljeno djelovanje. Vrlo malen dio (0.02 % T4 i 0.3% T3) nalazi se u slobodnu, nevezanu obliku, ali upravo taj dio određuje metaboličku aktivnost.

### 3.2. Regulatorna os hipotalamus-hipofiza-štitnjača

Lučenje hormona štitnjače reguliraju mnogi mehanizmi od kojih su najznačajniji oni povratne sprege koji djeluju preko hipotalamusa i adenohipofize. Serumska razina TSH ima najznačajniji učinak na funkciju štitnjače. TSH povećava lučenje tiroksina i trijodtironina iz štitnjače, dok povećanje koncentracije hormona štitnjače povratnom spregom koči lučenje TSH iz adenohipofize uglavnom izravnim djelovanjem na receptore adenohipofize.

Lučenje TSH iz prednjeg režnja hipofize regulirano je djelovanjem tireoliberina (TRH). TRH je tripeptid (piroglutamil-histidil-prolinamid) kojeg luče živčani završetci u eminenciji medijani hipotalamusa, odakle se hipotalamično-hipofiznim krvnim žilama prenosi u adenohipofizu. On izravno potiče žljezdane stanice adenohipofize na pojačano lučenje TSH.

T3 luči štitnjača, ali njegov najveći dio (80%) nastaje perifernom konverzijom T4. Proces se naziva 5`-dejodinacijom, a katalizira ga enzim 5`-dejodinaza tipa 1, koji u najvećoj mjeri sadrže stanice jetre i bubrega.



**Slika 1:** Shematski prikaz regulatorne osi hipotalamus-hipofiza-štitna žlijezda (modificirano prema Basset JH & Williams GR 2008.)

### 3.3. Tireotropin (TSH)

Kao što je prije navedeno, TSH je najznačajniji kontrolni faktor za funkciju štitnjače. Humani TSH je glikoprotein, prosječne molekularne mase 28 000, koji povećava lučenje tiroksina i trijodtironina iz štitnjače. Sintetizira se u anteromedijalnom dijelu adenohipofize, u bazofilnim stanicama koje čine 5% stanica prednjeg režnja hipofize. Humani TSH sastoji se od  $\alpha$ -podjedinice od 14 kd (92 aminokiseline) koja je zajednička luteinizirajućem (LH), foliklostimulirajućem (FSH), humanom korionskom gonadotropinu (hCG) i specifične  $\beta$ -podjedinice od 112 aminokiselina, koja predstavlja biološku i imunološku specifičnost pojedinog hormona. Normalna serumska koncentracija je između 0.4 i 4.2 mU/L. (Williams 12th edition.) Vezanje TSH za membranski receptor (TSH-R; sedam transmembranski

glikozilirani G-protein vezan receptor) stanica štitnjače aktivira sustav G-proteina koji vežu gvaninske nukleotide.

Specifični učinci TSH-a na štitnjaču očituju se u povećanoj proteolizi tireoglobulina, što za posljedicu ima oslobađanje trijodtironina i tiroksina, povećanom unosu joda i transportu koloida u stanice, povećanom jodiranju tirozina te povećanju broja stanica u štitnjači.

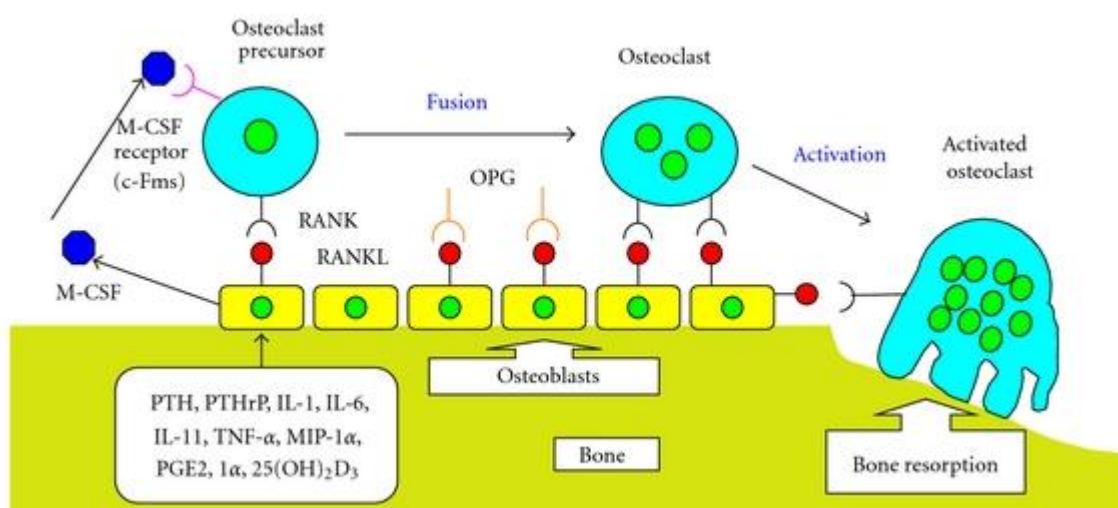
#### **4. Koštani metabolizam i principi koštane pregradnje**

Kost je dinamičan organ koji neprestano mijenja svoju građu u ciklusima pregradnje kosti što omogućuje prilagodbu kosti na mehaničko opterećenje. Neprekidna pregradnja kosti temelji se na ravnoteži između razgradnje postojećeg i izgradnje novog koštanog tkiva, tako da ukupna koštana masa ostaje očuvana. Iznimka je razdoblje rasta kosti gdje prevladavaju procesi izgradnje. Uloga pregradnje kosti u vrijeme rasta je postizanje vršne koštane mase, a tijekom odrasle dobi obnavljanje mikroprijeloma, koji nastaju svakodnevnim koštanom aktivnosti i održavanje homeostaze kalcija u organizmu. Procjenjuje se da se unutar 7 do 10 godina ukupna koštana masa potpuno pregradi. Koštanu pregradnju čine dva međusobno suprotna procesa: resorpcija ili razgradnja i formacija ili izgradnja kosti, svak određen svojom vrstom stanica. Za održavanje koštane mase konstantna ravnoteža između ova dva procesa je vrlo važna, što znači da volumen odstranjene oštećene kosti mora biti zamijenjen jednakom količinom zdrave nove kosti (Seeman, 2006.). Pri tome, osteoklastima treba približno tri tjedna da razgrade kost, dok će osteoblasti za izgradnju istog volumena kosti „potrošiti” približno četiri mjeseca (Rodan & Martin, 2000). Proces koštane pregradnje započinje aktivacijom osteoklasta, multinuklearnih fagocitnih stanica podrijetlom iz monocitno makrofagne loze. Oni se svojim resičastim nastavcima priljubljuju uz koštanu površinu te luče proteolitičke enzime koji degradiraju organski matriks, kao i kiseline za otapanje koštanih soli. Na taj način

osteoklasti probijaju tunel, tzv. Howshipovu lakunu kroz kost u koji naknadno naseljavaju osteoblasti, koji započinju proces koštane formacije. Nastale šupljine ispunjavaju se novosintetiziranim kolagenim matriksom (osteoidom) koji kasnije mineralizira. Cijeli proces je reguliran djelovanjem osteoblasta. Određen broj osteoblasta okruži se mineraliziranim matriksom te im se smanjuje metabolička aktivnost i postaju osteociti. Time se ispunjava nastali tunel ostavljajući u sredini prolaz krvnim žilama (Haversov kanal). Za osteoblaste se vjeruje da imaju mehanoreceptorska svojstva te da oni započinju proces pregradnje, odašiljanjem signala koji potiče proliferaciju i maturaciju osteoklasta. Osteoblasti luče ligand receptora za aktivaciju jezgrinog faktora kapa B (RANKL, engl. receptor activator nuclear factor kappa B ligand), molekulu koja uz makrofagni stimulator rasta kolonija (M-CSF, engl. macrophage colony stimulating factor) potiče diferencijaciju osteoklasta. Osteoklasti na svojoj površini eksprimiraju receptor za RANKL, receptor za aktivaciju jezgrinog faktora kapa B (RANK, engl. receptor activator nuclear factor kappa B). Osteoprotegerin (OPG) sintetiziraju osteoblasti, a ima važnu ulogu u modulaciji koštane resorpcije i diferencijaciji osteoklasta. OPG djeluje kao antagonist RANKL-a. On naime, smanjuje produkciju osteoklasta inhibirajući diferencijaciju osteoklastnih prekursora (Lacey et al., 1998; Boyle et al., 2003). Pregradnja kosti ovisi i o istovremenom prisustvu osteoblasta i osteoklasta, ali i velikog broja drugih faktora koji uvjetuju mehanizam regulacije procesa koštane pregradnje, kojim se održava stalna dinamička ravnoteža. Taj mehanizam u svojoj složenosti nije do kraja istražen, ali je poznat velik broj faktora koji u njemu sudjeluju (Šimić P et al., 2006). Veliku ulogu među njima imaju PTH, vitamin D, faktori rasta, drugi hormoni, citokini i drugi.

Paratireoidni hormon (PTH) je peptidni hormon koji se luči iz doštitnih žlijezda. Njegova osnovna funkcija je povećanje koncentracije kalcija u krvi, a kako kosti čine najveće skladište kalcija u tijelu, njegov utjecaj na proces koštane pregradnje je očit. Osnovni signal koji potiče lučenje tog hormona jest snižena koncentracija kalcija u plazmi. Da bi povišio kalcij u krvi,

PTH povećava apsorpciju kalcija i fosfata iz kosti i to na dva načina. Prvi učinak je brz, a ostvaren je putem aktivacije osteocita koji su potaknuti na apsorpciju minerala iz koštanog matriksa (osteoliza), dok je drugi učinak sporiji i posredovan aktivacijom osteoklasta koji pojačanom razgradnjom otpuštaju kalcij i fosfat. Uz navedene učinke na kosti PTH također povećava apsorpciju kalcija i fosfata iz crijeva preko vitamina D. PTH, naime, povećava stvaranje 1,25-dihidroksikolekalciferola (aktivni oblik) iz prethodnog neaktivnog oblika vitamina D, u bubrezima. PTH također utječe na bubrege smanjujući izlučivanje kalcija, uz povećano izlučivanje fosfata.



**Slika 2:** Shema koštane pregradnje. (preuzeto iz: Senba M et al, 2012.)

Kalcitonin je peptidni hormon sintetiziran u parafolikularnim stanicama štitne žlijezde. Ima suprotno djelovanje od PTH te je Osnovni poticaj za njegovo lučenje hiperkalcemija te ima suprotno djelovanje od PTH. On, naime posjeduje izraženi inhibicijski učinak na osteoklaste te koči resorpciju kosti.

## 5. Hormoni štitnjače i kost

### 5.1. Tireotoksikoza

Iako je danas zbog brze dijagnostike i terapije poprilično rijetka, nekontrolirana tireotoksikoza, najčešće u oboljelih od toksične nodularne strume ili Gravesove bolesti, opisana je kao uzrok osteoporoze te dokazano povećava rizik od fraktura, što je sažeto u meta-analizi koja je obuhvatila 25 studija (Vestergaard P & Mosekilde L, 2002). Populacijske i case-control studije jasno su pokazale da je hipertireoidizam neovisni čimbenik za prijelom kuka i kralješnice, te da se vjerojatnost prijeloma povećava s godinama života (Cummings SR, 1995). Prospektivna kohortna studija na postmenopauzalnim ženama utvrdila je 3-4 puta veću učestalost prijeloma kod pacijentica sa hipertireozom, što se samo djelomično pripisuje smanjenoj koštanoj mineralnoj gustoći (BMD) te sugerira da povišena razina T3 i T4 dovodi do stvaranja mikroarhitektonski nekvalitetnije kosti (Bauer DC et al., 2001). Histomorfometrijskom analizom otkriveno je da tireotoksikoza povećava frekvenciju ciklusa koštane pregradnje i smanjuje njihovo trajanje, prvenstveno redukcijom faze stvaranja kosti (Eriksen EF et al., 1986). Analiza je nadopunjena markerima koštane pregradnje: dolazi do značajnog porasta markera koštane resorpcije (C-telopeptida) i umjerenijeg porasta osteokalcina i alkalne fosfataze kao markera koštane formacije (Harvey RD et al., 1991.). Promjene u metabolizmu odražavaju se u negativnoj ravnoteži kalcija, njegovoj povećanoj sekreciji, a u težim slučajevima i hiperkalcijemiji (Mosekilde et al., 1990). Posljedično povećanoj koncentraciji kalcija pada razina PTH i dovodi do smanjenog stvaranja aktivnog oblika vitamina D, što može dodatno pogoršati kvalitetu kosti (Jastrup B et al., 1982). Manjak vitamina D će pak smanjiti reapsorpciju kalcija iz crijeva. U skladu s prethodno navedenim podacima za hipertireozu, u pacijenata s hipotireoidizmom produžen je ciklus koštane pregradnje (Melsen M & Mosekilde L, 1980). Unatoč ovim studijama točan mehanizam djelovanja tiroidnih hormona na koštani metabolizam ostaje nerazjašnjen.

## 5.2. Subklinički hipertireoidizam

Subklinička hipertireoza najčešća je u starijih pacijenata s nodularnom strumom. Serumska razina hormona štitnjače je normalna ili malo povišena, a TSH suprimiran. Učinci blage hipertireoze na koštanu masu nisu do kraja jasni, no niz studija je pokazalo negativan učinak na BMD i povećan rizik od fraktura. Male studije na pacijentima sa subkliničkim hipertireoidizmom opisale su normalne ili povišene markere koštane pregradnje (De Menis E et al., 1992; Lee WJ et al., 2006; Belaya ZE et al., 2007). Slično je pokazano i u studijama koje su analizirale BMD, koji je varirao od normalnog do sniženog (Ugur-Altun B i sur., 2003; Tauchmanova L et al., 2004). Međutim, pacijentice u postmenopauzi s dokazanom subkliničkom hipertireozom imaju značajno reducirani BMD (Mudde AH et al., 1994). Pad BMD-a ovisi o lokaciji, pa je tako najizraženiji na palčanoj kosti i vratu bedrene kosti, ali ne i na lumbalnoj kralježnici (Foldes J et al., 1993). U velikoj studiji na 2004 pacijenata potvrđena je značajno povećana incidencija prijeloma kod subkliničkog hipertireoidizma, no razlika se izgubila kad su naknadno isključeni pacijenti koji su tokom praćenja razvili hipertireozu ili se konvertirali u eutiroidno stanje (Vadiveloo T et al., 2011). Bauer i suradnici povezali su pad BMD-a sa sniženom razinom TSH u ovih pacijenata, no nije bio jasan točan tiroidni status (Bauer DC et al., 2001). To je otvorilo pitanja o potencijalnim učincima razine TSH na koštanu masu, o čemu će se raspraviti u nastavku.

Zaključno, potrebna su dodatna istraživanja kako bi se sa sigurnošću utvrdila povezanost subkliničke hipertireoze i smanjene koštane gustoće. Do tada treba uzimati u obzir moguću povezanost te posebnu pažnju posvećivati pacijenticama u postmenopauzi s blago povišenim hormonima štitnjače. Smanjenje BMD-a predstavlja jasan znak za početak liječenja subkliničkog hipertireoidizma.

### 5.3. Supresivna terapija tiroksinom

Potencijalni negativni učinak terapije tiroksinom predmet je rasprave u zadnja dva desetljeća. Ranije studije obavještavale su o smanjenoj koštanoj masi u tih pacijenata, s posebno izraženim gubitkom kortikalne kosti (Stock JM et al., 1974; Paul TL et al., 1988). Novija longitudinalna istraživanja nisu potvrdila snižen BMD nakon supresije tiroksinom, no radilo se o značajno nižim dozama (Stepan JJ et al., 1992; Marcocci C et al., 1997). Razina supresije tiroksinom proporcionalna je sa koštanim gubitkom, što pokazuje važnost pravilne titracije doze primjenjene terapije (Garton M et al., 1994). Pacijentice koje su prethodno bile hipertireotične imaju izniman gubitak kosti nakon supresije tiroksinom (Franklyn J et al., 1994). Kasnije su dvije retrospektivne studije produbile kontroverze, demonstrirajući normalan BMD uz tiroksinsku supresivnu terapiju, što je ponovno demantirano prospektivnim studijama koje su potvrdile ranije teze o sniženom BMD nakon terapije tiroksinom (Solomon BL et al., 1993; Leese GP et al., 1992).

Ključna studija pokazala je vezanost BMD-a nakon terapije tiroksinom sa razinom TSH: u pacijenata sa normalnim TSH ni BMD nije bio snižen (Hanna FW et al., 1998; Bauer DC et al., 2001). Navedeno dodatno potvrđuje otvoreno pitanje o ključnoj ulozi TSH, tj. ravnoteži između T3/T4 i TSH u serumu.

### 5.4. Molekularni mehanizam

Učinak tiroidnih hormona ostvaruje se vezanjem za tiroidne receptore (TR), nuklearne receptore koji sa ko-faktorima potiču transkripciju. Vezanje T3 dovodi do konformacijske promjene receptora te do regrutiranja ko-aktivatora a supresije ko-represora i posljedične aktivacije genske transkripcije (Cheng et al., 2010). TR su kodirani sa dva gena: THRA i THRB, koji proizvode više TR $\alpha$  i TR $\beta$  izoformi. TR $\alpha$ 1, TR $\beta$ 1 i TR $\beta$ 2 posjeduju vezajuće domene, što ih čini funkcionalnim receptorima, za razliku od TR $\alpha$ 2 koji nema mogućnost



vezanja T3 i pokazuje samo blagu antagonističku funkciju *in vitro*. TR $\alpha$ 1 je deset puta više eksprimiran od TR $\beta$ 1 na stanicama skeleta. U skladu s tim na miševima sa selektivnom delecijom *Thra* i *Thrb* potvrđeno je da je TR $\alpha$ 1 ključni receptor za učinke T3 na kost (Gauthier et al, 2001). Utjecaj T3 na kost tih miševa je poremećen usprkos njihovu eutiroidnom statusu, što se očitovalo osteoporozom zbog poremećene pregradnje kosti. Delecija TR $\beta$  izoformi nije pokazala nikakav utjecaj na koštanu pregradnju.

Receptori za T3 nađeni su na osteoblastima i osteoklastima (Abu EO et al., 1997). Međutim, njihov učinak na osteoklaste nije razjašnjen, tj. moguća je direktna stimulacija ili neizravno preko osteoblasta. T3 direktno stimulira koštanu resorpciju u kulturi stanica, koja može biti inhibirana imunosupresivnim citokinima. U navedenim staničnim kulturama povećana je koncentracija interleukina 6 (IL-6), koji inače snažno stimulira osteoklaste (Tarjan G & Stern PH, 1995). Povišene serumske koncentracije IL-6 izmjerene su i u pacijenata s hipertireozom (Lakatos P et al., 1997). U kulturi osteoblasta stimuliranoj niskim dozama tiroidnim hormonima povećana je produkcija inzulinu sličnog faktora rasta (IGF-1), dok je isti snižen nakon tretmana visokim dozama T3 (Lakatos P et al., 1993). Povišena prisutnost IGF-1 zamijećena je u serumu pacijenata s hipertireozom (Lakatos P et al., 2000).

## **6. TSH i koštani metabolizam**

Prije opisani TSHR prvenstveno je zastupljen na folikularnim stanicama štitne žlijezde, gdje regulira proliferaciju i sekreciju hormona. Identifikacijom TSHR u brojnim tkivima u organizmu postavljena je hipoteza o njegovim učincima na metabolizam tih organa. Tako je TSHR pronađen u mozgu, srcu, bubrezima, testisima, masnom tkivu te na imunološkim i hematopoetskim stanicama (Davies T et al., 2002). Njegovi potencijalni izravni učinci na koštani metabolizam pretpostavljeni su nakon otkrića TSHR na osteoblastima i osteoklastima (Abe E et al., 2003). Abe i suradnici su tada pokazali inhibiciju aktivnosti obje vrste koštanih

stanica nakon stimulacije s TSH. Nakon konstrukcije miševa s homozigotnim nul alelom za Tshr (*Tshr*<sup>-/-</sup>) pokazano je da isti razviju osteoporozu zbog povećane razgradnje kosti. TSH je opisan kao negativni regulator koštane pregradnje, tj. pretpostavljena je odgovornost manjka TSHR za nastanak osteoporoze, a ne tireotoksikoze. Studije na ovarijektomiranim miševima pokazale su da intermitentna primjena TSH u samo 2 tjedna pokazuje značajan antiresorptivni potencijal (Sun L et al., 2008; Sampath TK et al., 2007). U navedenim studijama opisana su dva modela, preventivski i terapijski. Kod terapijskog modela životinja je primala injekciju TSH 7 mjeseca nakon ovarijektomije što je značajno povećalo BMD, ovisno o primijenjenoj dozi TSH. Taj rezultat potvrđuje demonstriran *in vitro* učinak TSH na osteoklastogenezu (Sampath TK et al., 2007). U preventivskoj studiji terapija sa TSH započela je odmah po ovarijektomiji i imala značajan uspjeh u očuvanju početnog BMD. U obje studije egzogeni TSH nije povišio endogenu razinu tiroidnih hormona zbog iznimno male doze, sugerirajući neovisnost TSH u utjecaju na kost, tj. njegov izravan učinak.

S ciljem dodatnog razjašnjenja mehanizma utjecaja TSH na kost proizvedene su dvije vrste miševa: *Hyt/hyt* s nefunkcionalnim TSHR koji rezultira hipotireoidizmom i iznimno povišenom TSH te *Pax*<sup>-/-</sup> koji imaju intaktni TSHR uz kongenitalni hipotireoidizam kao posljedicu ageneze folikularnih stanica štitnjače. Činjenica da oba miša imaju slični skeletni fenotip dovodi do zaključka da os hipotalamus-hipofiza-štitnjača regulira razvoj skeleta primarno preko T3/T4, a ne TSH. Ova studija potvrđuje različite učinke TSH i T3/T4 u novorođenih i starijih životinja.

U narednim kliničkim studijama utjecaj TSH i hormona štitnjače na kost različito su interpretirani u smislu njihove korelacije s BMD (Basset JH & Williams GR, 2008.; Murphy E et al., 2010.). S obzirom na međusobnu ovisnost tih parametara kod osoba s očuvanom osi hipotalamus-hipofiza-štitnjača, teško je procijeniti učinak pojedinačne vrijednosti bilo TSH ili hormona štitnjače na kost. Praćenje markera koštane pregradnje u postmenopauzalnih žena nakon terapije rekombinantnim humanim TSH pokazalo je kontradiktorne učinke: osteokalcin i

C-telopeptid u dvije su studije bili povišeni, dok je u druge dvije taj porast izostao (Mazziotti G et al., 2005; Giusti M et al., 2007; Karga H et al., 2010; Martini G et al., 2008). Poznat je i prikaz slučaja brata i sestre sa izoliranim nedostatkom TSH koji su primali tiroksin nakon rođenja te imali normalan BMD i markere koštane pregradnje (Papadimitriou A et al., 2007).

U skladu s prethodnim eksperimentima na životinjama i povećanjem koštane mase nakon intermitentne primjene TSH uspostavljen je štakorski model tireoparatireoidektomije (Dumic-Cule I et al., 2014). Radi se o štakorima kojima je kirurški uklonjena štitna i doštitne žlijezde s posljedičnim padom koncentracije svih relevantnih kalciotropnih hormona: T3 i T4, PTH, kalcitonina i vitamina D. Kao rezultat operacije štakori već za 7 dana razviju osteoporozu. Ustanovljeno je da intermitentna terapija s rekombinantnim TSH značajno podiže koštani volumen u tih životinja. U štakora koji ne primaju terapiju gubitak kosti se ne nadoknađuje, iako je endogeni TSH visok zbog hipotireoidizma. To jednoznačno pokazuje razliku u učinku endogenog TSH i rekombinantnog egzogeno u tih životinja.

## 7. Zaključci

Hormoni štitnjače su važni regulatori razvoja skeleta te održavanja koštane mase tijekom odrasle dobi. Detaljna istraživanja njihovih učinaka započela su nakon otkrića receptora za tirodine hormone. Većina kataboličkih efekata T3 na skelet ostvaruje se preko TR $\alpha$ 1. Kod odraslih hipertireoidizam dovodi do redukcije BMD s posljedičnim povećanim rizikom od koštanih prijeloma. Osjetljivost skeleta na niske doze hormona štitnjače potvrđena je u postmenopauzalnih žena sa subkliničkim hipertireoidizmom te muškaraca tretiranih supresivnim dozama tiroksina. Izravni učinci T3 na osteoblastima su dokazani, dok učinak na osteoklaste ostaje nerazjašnjen. Pretpostavlja se ostvarivanje tog učinka preko aktivacije RANKL-RANK-OPG signalnog puta.

TSH djeluje preko TSHR na koštani metabolizam kao negativni regulator koštane pregradnje. Egzogeno intermitentno primijenjen TSH pokazao se u mnogim pretkliničkim studijama kao osteoanabolik. Klinička istraživanja potvrđuju važnost normalne razine TSH u očuvanju koštane mase, dok je u pacijenata s povišenom razinom TSH primijećen i povećani koštani volumen. Niske doze TSH mogle bi povoljno utjecati na koštanu masu, no prije bilo kakvih kliničkih studija nužno je potpuno razjasniti mehanizam njegovog djelovanja na koštane stanice i njihovu interakciju.

Zaključno, za povoljan učinak na koštanu pregradnju potrebna je ravnoteža hormona štitnjače i TSH.

## **8. Zahvale**

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Lovorki Grgurević, dr. med. na stručnim savjetima i potpori prilikom izrade ovog diplomskog rada. Također se od srca zahvaljujem Ivi Dumiću Čule, dr. med. na ukazanoj strpljenju, stručnosti i razumijevanju.

Zahvaljujem se i svojim roditeljima, Veri i Feruču na bezuvjetnoj potpori.

Posebno hvala mojoj sestri Marini i bratu Filipu koji su mi bili velika pomoć i podrška u najtežim trenucima te dečku Marku koji je uvijek tu da me razveseli.

## 9. Popis literature

- 1) Abu EO, Bord S, Horner A, Chatterjee VKK, Compston JE (1997) The expression of thyroid hormone receptors in human bone. *Bone* 21:137-142
- 2) Abe E, Mariani RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y, Iqbal J, Eldeiry L, Rajendren G, Blair HC, Davies TF, Zaidi M (2003) TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. *Cell* 115:151-162
- 3) Basset JH, Williams GR (2008) Critical role of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in bone. *Bone* 43:418-426
- 4) Bauer DC, Ettinger B, Nevitt MC, Stone KL (2001) Risk for fracture in women with low serum levels of thyroid-stimulating hormone. *Ann Intern Med* 134:561-568
- 5) Belaya ZE, Melnichenko GA, Rozinskaya LY, Fadeev VV, Alekseeva TM, Dorofeeva OK, Sasonova NI, Kolesnikova GS (2007) Subclinical hyperthyroidism of variable etiology and its influence on bone in postmenopausal women. *Hormones* 6:62-70
- 6) Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL (2003) Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 423:337-342
- 7) Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ (2010) Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev* 31:139-170
- 8) Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KE, Cauley J, Black D, Vogt TM (1995) Risk factors for hip fracture in white women. Study of osteoporotic fractures research group. *New Engl J Med* 332:767-773
- 9) Davies T, Mariani R, Latif R (2002) The TSH receptor reveals itself. *J Clin Invest* 110:161-164
- 10) De Menis E, Da Rin G, Roiter I, Legovini P, Foscolo G, Conte N (1992) Bone turnover in overt and subclinical hyperthyroidism due to autonomous thyroid adenoma. *Horm Res* 37:217-220

- 11) Dumic-Cule I, Draca N, Luetic AT, Jezek D, Rogic D, Grgurevic L, Vukicevic S (2014) TSH prevents bone resorption and with calcitriol synergistically stimulates bone formation in rats with low levels of calciotropic hormones. *Horm Metab Res* 46:305-312
- 12) Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F (1986) Kinetics of trabecular bone resorption and formation in hypothyroidism: evidence for a positive balance per remodeling cycle. *Bone* 7:101-108
- 13) Foldes J, Tarjan G, Szathmari M, Varga F, Krasznai I, Horvath C (1993) Bone mineral density in patients with endogenous subclinical hyperthyroidism: is this thyroid status a risk factor for osteoporosis? *Clin Endocrinol* 39:521-527
- 14) Franklyn J, Betteridge J, Holder R, Daykin J, Lilley J, Sheppard M (1994) Bone mineral density in thyroxine-treated females with or without a previous history of thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol* 41:425-432
- 15) Garton M, Reid I, Loveridge N, Robins S, Murchison L, Beckett G, Reid D (1994) Bone mineral density and metabolism in premenopausal women taking L-thyroxine replacement therapy. *Clin Endocrinol* 41:747-755
- 16) Gauthier K, Plateroti M, Harvey CB, Williams GR, Weiss RE, Refetoff S, Willott JF, Sundin V, Roux JP, Malaval L, Hara M, Samarut J, Chassande O (2001) Genetic analysis reveals different functions for the products of the thyroid hormone receptor alpha locus. *Mol Cell Biol* 21:4748-4760
- 17) Giusti M, Cecoli F, Ghiara C, Rubinacci A, Villa I, Cavallero D, Mazzuoli L, Mussap M, Lanzi R, Minuto F (2007) Recombinant human thyroid stimulating hormone does not acutely change serum osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand in patients under evaluation for differentiated thyroid carcinoma. *Hormones* 6:304-313

- 18) Hanna FW, Pettit RJ, Animari F, Evans WD, Sandeman JH, Lazarus JH (1998) Effect of replacement doses of thyroxine on bone mineral density. *Clin Endocrinol* 48:229-234
- 19) Harvey RD, McHardy KC, Reid IW, Paterson F, Bewsher PD, Duncan A, Robins SP (1991) Measurement of bone collagen degradation in hyperthyroidism and during thyroxine replacement therapy using pyridinium cross-links as specific urinary markers. *J Clin Endocrinol Metab* 72:1189-1194
- 20) Jastrup B, Mosekilde L, Melsen F, Lund B, Lund B, Sorensen OH (1982) Serum levels of vitamin D metabolites and bone remodeling in hyperthyroidism. *Metabolism* 31:126-132
- 21) Karga H, Papaioannou G, Polymeris A, Papamichael K, Karpouza A, Samouilidou E, Papaioannou P (2010) The effects of human recombinant TSH on bone turnover in patients after thyroidectomy. *J Bone Miner Metab* 28:35-41
- 22) Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufmann S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ (1998) Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93:165-176
- 23) Lakatos P, Caplice MD, Khanns V, Stern PH (1993) Thyroid hormones increase insulin-like growth factor-I content in the medium of rat bone tissue. *J Bone Miner Res* 8:1475-1481
- 24) Lakatos P, Foldes J, Horvath C, Kiss L, Tatrai A, Takacs G, Tarjan G, Stern PH (1997) Serum IL-6 and bone metabolism in patients with thyroid function disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 82:78-81
- 25) Lakatos P, Foldes J, Nagy Z, Takacs I, Speer G, Horvath S, Mohan S, Baylink DJ, Stern PH (2000) Serum insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding proteins, and bone mineral content in hyperthyroidism. *Thyroid* 5:417-423
- 26) Lee WJ, Oh KW, Rhee EJ, Jung CH, Kim SW, Yun EJ, Tae HJ, Baek KH, Kang MI, Choi



- MG (2006) Relationship between subclinical thyroid dysfunction and femoral neck bone mineral density in women. Arch Med Res 37:511-516
- 27) Leese GP, Jung RT, Guthrie C, Waugh N, Browning MC (1992) Morbidity in patients on L-thyroxine: a comparison of those with normal TSH to those with a suppressed TSH. Clin Endocrinol 37:500-503
- 28) Marcocci C, Golia F, Vignali E, Pinchera A (1997) Skeletal muscle integrity in men chronically treated with suppressive doses of L-thyroxine. J Bone Miner Res 12:72-77
- 29) Martini G, Gennari L, De Paola V, Pilli T, Salvadori S, Merlotti D, Valleggi F, Campagna S, Franci B, Avanzati A, Nuti R, Pacini F (2008) The effects of recombinant TSH on bone turnover markers and serum osteoprotegerin and RANKL levels. Thyroid 18:455-460
- 30) Mazziotti G, Sorvillo F, Piscopo M, Cioffi M, Pilla P, Biondi B, Iorio S, Giustina A, Amato G, Carella C (2005) Recombinant human TSH modulates *in vivo* C-telopeptides of type-1 collagen and bone alkaline phosphatase, but not osteoprotegerin production in postmenopausal women monitored for differentiated thyroid carcinoma. J Bone Miner Res 20:480-486
- 31) Melsen F, Mosekilde L (1980) Trabecular bone mineralization lag time determined by tetracycline double-labeling in normal and certain pathological conditions. Acta Pathol Microbiol Scand 88:83-88
- 32) Mosekilde L, Eriksen EF, Charles P (1990) Effects of thyroid hormones on bone and mineral metabolism. Endocrinol Metab Clin North Am 19:35-63
- 33) Mudde AH, Houben AJ, Nieuwenhuijzen Kruseman AC (1994) Bone metabolism during anti-thyroid drug treatment of endogenous subclinical hyperthyroidism. Clin Endocrinol 41:421-424
- 34) Murphy E, Gluer CC, Reid DM, Felsenberg D, Roux C, Eastell R, Williams GR (2010) Thyroid function within the upper normal range is associated with reduced bone mineral

density and an increased risk of nonvertebral fractures in healthy euthyroid postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 95:3173-3181

35) Papadimitriou A, Papadimitriou DT, Papadopoulou A, Nicolaidou P, Fretzayas A (2007) Low TSH levels are not associated with osteoporosis in childhood. *Eur J Endocrinol* 157:221-223

36) Paul TL, Kerrigan J, Kelly AM, Braverman, Baran DT (1988) Long-term L-thyroxine is associated with decreased hip bone density in premenopausal women. *JAMA* 259:3137-3141

37) Rodan GA, Martin TJ (2000) Therapeutic approaches to bone diseases. *Science*;289(5484):1508-14.

38) Sampath TK, Simic P, Sendak R, Draca N, Bowe AE, O'Brien S, Schiavi SC, McPherson JM, Vukicevic S (2007) Thyroid-stimulating hormone restores bone volume, microarchitecture, and strength in aged ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 22:849-859

39) Seeman, E (2006) Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med.*, 25;354(21): 2250-61.

40) Simic P, Culej JB, Orlic I, Grgurevic L, Draca N, Spaventi R, Vukicevic S (2006) Systemically administered bone morphogenetic protein-6 restores bone in aged ovariectomized rats by increasing bone formation and suppressing bone resorption. *J Biol Chem* 281:25509-25521

41) Solomon BL, Wartofsky L, Burman KD (1993) Prevalence of fractures in postmenopausal women with thyroid disease. *Thyroid* 3:17-23

42) Stepan JJ, Limanova Z (1992) Biochemical assessment of bone loss in patients on long-term thyroid hormone treatment. *Bone Miner* 17:377-388

43) Stock JM, Surks MI, Oppenheimer JH (1974) Replacement dosage of L-thyroxine in hypothyroidism. *N Engl J Med* 290:529-533

44) Sun L, Vukicevic S, Baliram R, Yang G, Sendak R, McPherson J, Zhu LL, Iqbal J, Latif R,

- Natrajan A, Arabi A, Yamoah K, Moonga BS, Gabet Y, Davies TF, Bab I, Abe E, Sampath TK, Zaidi M (2008) Intermittent recombinant TSH injections prevent ovariectomy-induced bone loss. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:4289-4294
- 45) Tarjan G, Stern PH (1995) Triiodothyronine potentiates the stimulatory effects of interleukin-1 $\beta$  on bone resorption and medium interleukin-6 content in fetal rat limb bone cultures. *J Bone Miner Res* 10:1321-1326
- 46) Tauchmanova L, Nuzzo V, Del Puente A, Fonderico F, Esposito-Del Puente A, Padulla S, Rossi A, Bifulco G, Lupoli G, Lombardi G (2004) Reduced bone mass detected by bone quantitative ultrasonometry and DEXA in pre- and postmenopausal women with endogenous subclinical hyperthyroidism. *Maturitas* 48:299-306
- 47) Ugur-Altun B, Altun A, Arikan E, Guldiken S, Tugrul A (2003) Relationships existing between the serum cytokine levels and bone mineral density in women in the premenopausal period affected by Graves disease with subclinical hyperthyroidism. *Endocr Res* 29:389-398
- 48) Vadiveloo T, Donnan PT, Cochrane L, Leese GP (2011) The thyroid epidemiology, audit and research study (TEARS): morbidity in patients with endogenous subclinical hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 96:1344-1351
- 49) Vestergaard P, Mosekilde L (2002) Fractures in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism: a nationwide follow-up study in 16,249 patients. *Thyroid* 12:411-419
- 50) Shlomo Melmed, Kenneth Polonsky, P. Reed Larsen, Henry Kronenberg (2011), *Williams textbook of Endocrinology*, Philadelphia, Saunders.

## **10. Životopis**

Rođena sam 14. ožujka 1990. u Puli gdje sam i odrasla. Završila sam osnovnu školu Giuseppina Martinuzzi te osnovnu glazbenu školu Ivana Matetića Ronjgova.

Nakon toga sam upisala opću gimnaziju u Puli, koju sam završila sa odličnim uspjehom.

Iste godine upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu.

Članica sam studentske udruge Croomsic.